动 物 学 研 究 2002, Jun. 23 (3): 261 ~ 265 CN 53 - 1040/Q ISSN 0254 - 5853
Zoological Research

简报

青霉酸对尼西鸡的毒性作用

何祖平[1], 袁 慧[2,3], 丰美福[1,4]
(1. 中国科学院动物研究所 生物膜与膜生物工程国家重点实验室, 北京 100080;
2. 湖南农业大学 动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 采用人工染毒的方法, 观察或检测了青霉酸 (penicillic acid) 中毒 60 d 内尼西鸡的病理组织变化、血液生理生化指标、血清酶活性和青霉酸在脏器中的残留量。结果表明: ①青霉酸中毒尼西鸡的主要病理变化是肝细胞脂肪变性、肾小管上皮细胞浊肿、心肌细胞颗粒变性; ②红细胞平均压积 (MCV) 和红细胞平均血红蛋白浓度 (MCHC) 显著低于对照组; 而谷丙转氨酶 (SGPT)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和碱性磷酸酶 (AKP) 等血清酶活性显著高于对照组; ③青霉酸在各脏器中含量分布依次为肝 > 肾 > 心, 表明青霉酸的分布与各脏器的病变程度具有相关性, 肝脏是青霉酸作用的靶器官。其结果为家禽青霉酸中毒疾病的防治和青霉酸的中毒机理提供了科学依据。

关键词: 青霉酸; 尼西鸡; 毒性作用; 病理组织; 血液
中图分类号: S831.5; R99 **文献标识码**: A **文章编号**: 0254 - 5853(2002)03 - 0261 - 05

Toxicity of Penicillic Acid in Broiler Chickens

HE Zu-ping[1], YUAN Hui[2,3], FENG Mei-fu[1,4]
(*1. State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100080, *China*; *2. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha* 410128, *China*)

Abstract: In order to provide scientific grounds for the prevention and treatment of penicillic acid poisoning on the poultry and the mechanism of penicillic acid toxicosis, the toxicity of penicillic acid has been investigated in broiler chickens. By the artificial contamination, we observed the pathological manifestation and measured the changes of blood biochemical value, the residue of penicillic acid in tissue and organs of the broiler chickens within 60 days. The results showed that: ① major pathological changes was fatty and vacuolar degeneration of hepatocytes, cloudy swelling of renal epithelial cells and myocardial cells; ② the contents of MCV and MCHC in poisoned groups were less than that in control group, whereas the activities of SGPT, LDH and AKP in the formers were higher than those in the latter; ③ as for the distribution of penicillic acid, the amount was the highest in liver, and the residue in kidney outweighed that in heart. It was understandable that there was a relation between the residue of penicillic acid and the degree of lesion. The target organ of penicillic acid poisoning was liver.

Key words: Penicillic acid; Broiler chicken; Toxicity; Pathohistology; Blood

青霉酸主要是由圆弧青霉菌产生的有毒代谢产物。Alsberg 等人在 1913 年首先分离出青霉酸 (Alsberg & Black, 1913), 从此, 人们对青霉酸的毒性作用进行了一些研究。青霉酸对体外培养的肝巨噬细胞有细胞毒作用, 使巨噬细胞的 ATP、RNA 和蛋白质合成降低 (Sorenson & Simpson, 1986)。

收稿日期: 2001 - 08 - 27; 接受日期: 2001 - 12 - 26
基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目 (97037)
3. 联系人, E-mail: yuanhui1946@chinese.com
4. Tel: 010 - 62571017, E-mail: fengmf@panda.ioz.ac.cn

青霉酸抑制 Na^+、K^+、Ca^{2+} 进入青蛙的离体心肌，引起心脏骤停（Pandiyan *et al.*，1990）。用青霉酸污染的饲料饲喂仔猪，其体重、胸腺和脾重量降低，而肝和肾重量增加；并且早期发生肝细胞变性，晚期肝细胞增生（Stoev *et al.*，2001）。目前，因饲料青霉毒素中毒而引起的疾病很多，尤其在长江以南诸省份。以前认为主要是黄曲霉毒素（$AFTB_1$）中毒，事实上除 $AFTB_1$ 外，可能还有青霉酸的毒性作用。袁慧（1998）曾报道，青霉菌在饲料中的污染率占89.30%，而圆弧青霉菌占青霉菌污染率的60.30%；另据袁慧（2000）从湖南省采集的80个饲料样品，其青霉酸的平均含量为0.38%，最高为1.4%，可见饲料中青霉酸的含量较高；Kurtzman & Ciegler（1970）也报道，饲料中青霉酸含量高达2%，而且青霉酸与饲料中其他毒素如展青霉素、桔青霉素等相互作用，其联合毒性增强。

国内外尚未见饲料中青霉酸对家禽毒性作用的研究报道。我们采用人工染毒的方法，研究了青霉酸对尼西鸡的毒性作用，拟为家禽青霉酸中毒疾病的防治提供科学依据；并探讨了青霉酸中毒各脏器病变程度与其分布的内在联系，找出了青霉酸中毒的靶器官，以助于阐明青霉酸中毒机理。

1 材料和方法

1.1 材 料

尼西鸡购自湖南天心养鸡场，饲料由湖南追求饲料研究中心提供，标准青霉酸（10 mg/mL）购自Sigma公司。

1.2 方 法

1.2.1 饲料中青霉酸的鉴定及含量测定 取霉变饲料样品1 000 g置于锥形瓶中，加氯仿1 500 mL，康氏振荡器振荡1 h，过滤，氯仿定容至500 mL。柱层析纯化，洗脱剂为氯仿－甲醇（97:3），洗脱液在50 ℃恒温水浴挥干，用10 mL 95%乙醇溶解（袁慧等，1994）。薄层层析鉴定，展开剂为氯仿－甲醇（97:3），以氨蒸气熏染，在365 nm紫外光灯下观察荧光，计算样品和标准青霉酸的 Rf 值（Betina，1985）。

以标准青霉酸绘制工作曲线，95%的乙醇作空白调零，波长224 nm处测定其吸光值 A。以 A 为纵坐标，浓度 C 为横坐标，求回归方程 $A = aC + b$，并计算相关系数 r。将提纯的青霉酸稀释1 000倍，测定样品中青霉酸的含量及浓度（Kurtzman *et al.*，1970）。

1.2.2 染毒实验 8日龄尼西鸡60只，预饲1周确认健康并接种新城疫苗后随机分成3组，每组20只。第1组为对照组（Ⅰ）；第2组饲喂提纯的青霉酸（Ⅱ），初始剂量为10 mg/kg体重，然后每隔4 d递增5%；第3组饲喂2倍于Ⅱ组剂量的提纯青霉酸（Ⅲ）。饲养方式均为在室温和自然光照下自由采食、饮水。

1.2.3 病理组织变化 实验过程中剖检濒死尼西鸡，先肉眼观察病变情况，然后选取典型病鸡的肝、心、肾等组织，甲醛固定，酒精脱水，氯仿透明，石蜡包埋切片，HE染色，镜检。

1.2.4 血液生理生化指标及血清酶检测 染毒30 d时每组捕捉4只鸡，颈静脉采血后释放。分离血清，用比色法测定乳酸脱氢酶（LDH），改良布氏法测定碱性磷酸酶（AKP），赖氏法测定谷丙转氨酶（SGPT）和谷草转氨酶（SGOT），方法参见《临床生化检验》（王继贵，1992）。

1.2.5 青霉酸在实质脏器中的残留与分布 染毒60 d实验结束时每组随机选取5只鸡，分别取肝、心、肾等脏器，称重后用剪碎机剪成匀浆，以20 mL 95%乙醇提取各脏器残留青霉酸，95%乙醇作空白调零，224 nm处测定青霉酸的吸收度 A，计算其残留量。

1.2.6 数据处理 数据以平均值±标准误表示，组间数据经生物学统计分析，$P < 0.05$ 为差异显著，$P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 青霉酸的鉴定

薄层层析结果见表1，标准青霉酸的 $Rf_{标} = 0.504$，与样品 $Rf_{样} = 0.500$ 很接近，用百分比法统计分析，$Rf_{标}/Rf_{样} \times 100\% = 99.2\%$。标准青霉酸曲线经线性回归，得回归方程 $A = 63.96C + 0.302$，相关系数 $r = 0.9984$。样品的吸光度 $A = 0.4529$，$C = 2.36$ mg/mL，则样品中青霉酸的含量为 $2.36\ mg/100\ g \times 1\ 000 \times 100\% = 2.36\%$。

2.2 青霉酸中毒尼西鸡的主要病理变化

2.2.1 解剖检查 病变鸡皮下干燥，胃、肠粘膜充血，十二指肠有许多出血斑，盲肠有针尖样大的出血点；心脏色泽稍淡，心包有纤维素性炎症；肝脏肿大，色微黄，质地较脆，边缘钝圆，肝可见针

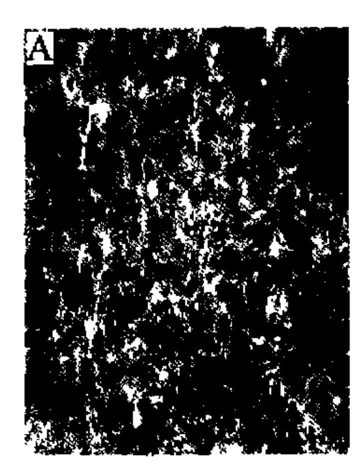
尖大小出血坏死点，气囊与肝发生粘连；肾脏稍肿大、被膜易剥离，表面呈灰白色，质地稍软，切面皮质稍增厚，散在灰白色条纹；肺、脾未见明显病变。

2.2.2 病理组织变化 尼西鸡青霉酸染毒 60 d 后，Ⅱ组有 6 只死亡，死亡率为 30%；Ⅲ组死亡率为 35%。主要脏器病变特征描述如下：肝淤血，间质增生，淋巴细胞浸润，有纤维组织增生灶，其边缘有较多异嗜性白细胞浸润；肝细胞呈弥漫性中等程度的脂肪变性，伴有水泡变性；肝细胞肿大，胞浆空泡化（图 1A）。肾间质淤血，肾小管上皮细胞中等程度混浊肿胀，部分肾小管上皮细胞空泡变性、肾近曲小管上皮细胞胞浆内有细小颗粒，管腔狭窄，不规则（图 1B）。心外膜增厚、水肿、有淋巴细胞浸润和增生性灶，较少的淋巴细胞坏死；心肌间质轻度水肿，胞浆内有红染小颗粒，心内膜局部增生（图 3C）。

表 1 样品和标准品中青霉酸的 *Rf* 值

Table 1 *Rf* of the sample and standard in penicillic acid

试剂 Reagent	展开次数 Times					*Rf* ± *S*
	1	2	3	4	5	
样品 Sample	0.49	0.50	0.50	0.51	0.50	0.500 ± 0.0063
标准品 Standard	0.50	0.50	0.51	0.50	0.51	0.504 ± 0.0036





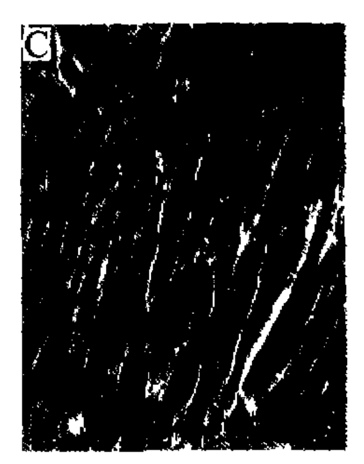


图 1 青霉酸中毒尼西鸡脏器病理组织变化

Fig.1 Pathohistological changes of organs in broiler chickens poisoned by penicillic acid

A. 肝细胞脂肪变性，箭头示肝细胞肿大，胞浆空泡化（Fatty and vacuolar degeneration of hepatocytes, arrows showing hepatocytes swelling and cytoplasm being vacuole）×40

B. 肾小管上皮细胞浊肿，箭头示胞浆内的细小颗粒及狭窄、不规则的管腔（Cloudy swelling of kidney epithelial cells, arrows showing granules in cytoplasm and tubes of narrow abnormity）×40

C. 心肌细胞颗粒变性，箭头示胞浆内的红染小颗粒（Granulate degeneration of myocardial cells, arrows showing red-dyed granules in cytoplasm）×40

2.3 血液生理生化指标及血清酶检测

表 2 可见，Ⅱ组尼西鸡的红细胞总数（RBC）、血红蛋白（HB）、血小板（PLT）、红细胞平均血红蛋白（MCH）与Ⅰ组比较，差异不显著（$P > 0.05$）。青霉酸明显降低红细胞平均血红蛋白浓度（MCHC）和红细胞平均压积（MCV），Ⅱ和Ⅲ组尼西鸡的 MHCH 与Ⅰ组比较，差异极显著（t 值分别为 4.17、6.54，$P < 0.01$）；Ⅲ组尼西鸡的 MCV 与对照组相比，差异显著（$t = 4.75$，$P < 0.05$）。Ⅲ组尼西鸡的 PLT 与对照组进行对比，差异极显著（$t = 5.88$，$P < 0.01$），说明青霉酸减少 PLT 具有剂量依赖性。

比较各组鸡的 SGOT，无显著差异（$P > 0.05$）。就 SGPT 而言，Ⅲ组与Ⅰ组差异极显著（t

=5.07，$P<0.01$）；而Ⅲ组的AKP、LDH相对于对照组来说，差异显著（$t_{AKP}=2.45$，$t_{LDH}=2.37$，$P<0.05$），并且青霉酸使SGPT酶活性升高具有剂量依赖性，如SGPT酶活性Ⅲ组>Ⅱ组>Ⅰ组（表3）。

2.4 青霉酸在实质脏器中的残留量

图2可见，Ⅲ、Ⅱ组鸡肝脏内青霉酸平均残留量分别为4.38×10^{-3} mg/g和3.26×10^{-3} mg/g，明显高于相应组鸡肾中青霉酸的残留量3.10×10^{-3} mg/g、2.78×10^{-3} mg/g，经t检验差异极显著（$t=6.60$，$P<0.01$）；Ⅲ、Ⅱ组鸡心脏中青霉酸的残留量分别为2.06×10^{-3} mg/g和1.83×10^{-3} mg/g，远比相应组尼西鸡的肝和肾中青霉酸残留量低，差异极显著（t值分别为7.0和29.80，$P<0.01$）；青霉酸在脏器中的残留量依次为肝>肾>心。

表2 青霉酸对尼西鸡血液生化指标的影响

Table 2 The influence of penicillic acid on blood biochemical value in chickens

组别 Group	HB (g/dL)	RBC ($\times10^4$/mm^3)	MCHC (g/L)	MCH (pg)	MCV (fL)	PLT ($\times10^9$/L)
Ⅰ	7.17±0.21	267.80±9.51	419±12	43.2±1.5	108.6±8.5	3.0±0.5
Ⅱ	6.73±0.06	262.83±7.13	399±8^b	42.1±1.3	103.2±6.8	2.4±0.2
Ⅲ	6.52±0.09	261.17±17.19	85±10^b	41.0±2.0^a	93.5±4.2^a	2.0±0.1^b

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$；HB：血红蛋白（Hemoglobin）；RBC：红细胞总数（Red blood cell）；MCHC：平均血红蛋白浓度（Mean corpuscular hemoglobin concentration）；MCH：平均血红蛋白（Mean corpuscular hemoglobin）；MCV：红细胞平均压积（Mean clinical value of red blood cell）；PLT：血小板（Platelet）。

表3 青霉酸中毒尼西鸡的血清酶活性变化

Table 3 The activities of serum enzyme of chickens poisoned by penicillic acid

组别 Group	SGPT (u)	SGOT (u)	AKP (u)	LDH (u)
Ⅰ	11.37±2.29	167.88±14.58	33.95±7.11	1 219.00±140.08
Ⅱ	12.96±2.51	175.08±21.96	37.29±7.24	1 343.00±200.44
Ⅲ	16.95±2.71^b	178.55±11.70	42.90±8.05^a	1 451.00±270.86^a

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$。

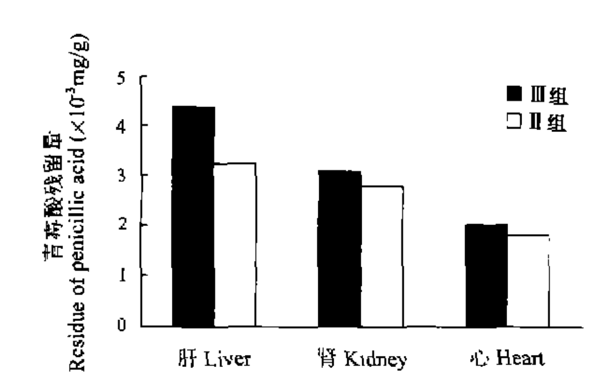


图2 青霉酸在中毒鸡肝、肾和心的残留量

Fig.2 The residue of penicillic acid in liver, kidney and heart of chickens

3 讨论

Ⅱ、Ⅲ组尼西鸡青霉酸中毒死亡率分别为30%和35%，表明饲料青霉毒素中毒除$AFTB_1$外，应该还有青霉酸的毒性作用。预备实验时，我们发现青霉酸对一日龄尼西鸡的半数致死量（LD_{50}）为（2.0±0.17）g/kg。饲料中青霉酸的平均含量为0.38%，体重0.5 kg的尼西鸡平常进食250 g饲料可能引起青霉酸中毒死亡。由此可见，青霉酸在饲料青霉毒素中毒中起重要作用。

青霉酸使鸡血清中的SGPT、AKP和LDH酶活性升高，而对SGOT无显著影响，表明SGPT和LDH酶活性（尤其是LDH同工酶LDH_5）是肝损伤的敏感指标。有些中毒尼西鸡在临床症状未明显出现以前，SGPT就有一定程度升高，基于血清酶的活性先于临床症状，因此，血清SGPT活性可作为早期监测青霉酸中毒与否的较好指标。

中毒尼西鸡和正常尼西鸡的RBC、HB、PLT、MCH无显著差异（$P>0.05$），这与Pandiyan *et al*.（1990）报道的仔猪青霉酸急性中毒HB、血浆蛋白

都无明显改变相一致。但青霉酸亚慢性中毒能明显降低尼西鸡红细胞 MCHC 和 MCV，且 2 倍剂量的青霉酸能减少 PLT，亚慢性和慢性青霉酸蓄积中毒须引起人们足够的重视。

我们运用碳酸氢钠、次氯酸钠、氢氧化钠和氯化钠等 4 种化学试剂对青霉酸进行脱毒试验，发现碳酸氢钠是最有效的青霉酸去毒剂，3%的碳酸氢钠处理青霉酸 1 d，就能降低青霉酸毒素量 96.51%（何祖平和袁慧，2000）。此外，氨能解除饲料中青霉酸的细胞毒性和基因毒性（Speer & Sussmuth，1987），但青霉酸的去毒机理有待进一步探讨。

青霉酸中毒尼西鸡病变程度肝＞肾＞心，而青霉酸在各脏器中残留量亦为肝＞肾＞心，表明青霉酸引起的病变程度与其在各脏器中的残留量具有相关性，同时也说明青霉酸中毒的靶器官很可能是肝，主要损害的器官是肾和心，这与青霉酸可能由肝代谢和由肾排泄等毒代动力学特点相符（Chan *et al*.，1984）。

致谢：承蒙湖南农业大学陈可毅教授审阅全文，湖南农业大学张冬英硕士生和付规玉同学参加了部分实验，在此深表谢意。

参考文献：

Alsberg L，Black O. 1913. *Contribution to the study of maize deterioration* [J]. *US Dept*. *Agri*.，**207**：7－12

Betina V. 1985. Thin-layer chromatography of mycotoxins [J]. *Chromatography*，**334**（3）：211－276.

Chan P K，Hayes A W，Siraj M Y. 1984. *Pharmacokinetics of the mycotoxin penicillic acid in male mice*：Absorption，distribution，excretion，and kinetics [J]. *Toxicol*. *Appl*. *Pharmacol*.，**73**（2）：195－203.

He Z P，Yuan H. 2000. *Detoxification of penicillic acid by chemical treatments* [J]. *Journal of Hunan Agricultural University*，**26**（1）：64－65.［何祖平，袁　慧. 2000. 青霉酸的化学脱毒效果试验. 湖南农业大学学报，**26**（1）：64－65.］

Kurtzman C，Ciegler A. 1970. *Mycotoxin from a blue-eye mold of corn* [J]. *Appl*. *Microbiol*.，**20**：204－207.

Pandiyan V，Nayeem M，Nanjappan K. 1990. Penicillic acid as Na^+，K^+ and Ca^{2+} channel blocker in isolated frog's heart at toxic levels [J]. *Indian J*. *Exp*. *Biol*.，**28**（3）：295－296.

Sorenson W G，Simpson J. 1986. Toxicity of penicillic acid for rat liver macrophages *in vitro* [J]. *Environ*. *Res*.，**41**（2）：505－513.

Speer M，Sussmuth R，1987. Bacterial tests as indicators for the detoxification of the mycotoxin penicillic acid by ammonia treatment [J]. *Food Chem*. *Toxicol*.，**25**（1）：31－34.

Stoev D，Vitanov S，Anguelov G. 2001. Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid [J]. *Vet*. *Res*. *Commun*.，**25**（3）：205－223.

Wang J G. 1992. Clinical Biochemical Test [M]. Changsha：Hunan Press. 255－261.［王继贵. 1992. 临床生化检验. 长沙：湖南出版社. 255－261.］

Yuan H. 1998. The investigation on fungus toxin of moldy feed in Hunan Province [J]. *Hunan Feed*.（5）：22－23.［袁　慧. 1998. 湖南省霉变饲料中青霉菌毒素的实验调查. 湖南饲料.（5）：22－23.］

Yuan H. 2000. Studies on the contamination of fungus toxinin in different feeds during different periods [J]. *Hunan Feed*.（2）：8－9.［袁慧. 2000. 不同时期不同品种的饲料中青霉毒素的污染量. 湖南饲料.（2）：8－9.］

Yuan H，Li W P，Wen L X. 1994. Feed Toxin and Hygiene [M]. Changsha：Hunan Science and Technology Publishing House. 156－160.［袁　慧，李文平，文利新. 1994. 饲料毒物与卫生学. 长沙：湖南科技出版社. 156－160.］

潘清华子女向昆明动物研究所捐赠书刊

2002 年 4 月 8 日，原中国科学院昆明动物研究所所长、我国著名动物学家潘清华先生以 86 岁的高龄离开了他为之倾注了毕生心血的动物科学事业，驾鹤西去。昆明动物研究所的全体职工至今仍沉浸在对先生的深切缅怀之中。

2002 年 4 月下旬，先生的子女潘为民等遵照先生生前遗愿，将先生生前所藏科技书刊 628 册全部捐赠给昆明动物研究所，以为我国的科学事业再做贡献。这些书刊包括工具书 16 册，图鉴及原版英文图书 36 册，志书类 29 册，科学专著 51 册，论文集 26 册，人物志及其他 21 册，科技学术期刊 449 册，以及各种内部资料若干。

潘清华先生毕生视他所钟爱的科学事业为生命，而对于其他身外之物却看得十分淡薄。当研究所所长几十年，留给后人的除了这 600 多册书籍之外，别无长物，真可谓两袖清风！其高风亮节可见一斑。

睹物思人。人们怀念潘清华先生，不仅仅是他所留下的这 600 多册图书，还有他的道德文章，更有他的高风亮节！

《动物学研究》编辑部